转基因抗虫棉对棉铃虫及其内寄生蜂的双重效应

任 璐^{1,2},杨益众^{2*},李 □¹,苗 麟¹,余月书²,秦启联^{1*}

(1.中国科学院动物研究所,农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室,北京 100080; 2.扬州大学农学院植物保护系,江苏扬州 225009)

摘要:以含 1%转基因(Cry1A + CpTI)抗虫棉"中抗 310"棉叶粉的人工饲料为基础,建立一套抗虫棉-棉铃虫 Helicoverpa armigera-棉铃虫幼虫内寄生蜂中红侧沟茧蜂 Microplitis mediator 和棉铃虫齿唇姬蜂 Campoletis chlorideae 的三级营养关系的研究系统,研究了转基因抗虫棉对棉铃虫及内寄生蜂的双重效应,分析比较了 6 种状态的棉铃虫生长发育动态,以及寄生蜂的生长状况。结果表明,无论是否被寄生,抗虫棉对棉铃虫生长发育的抑制作用都非常显著;寄生取食抗虫棉饲料的棉铃虫的寄生蜂,其出茧率和茧重都显著下降,对于中红侧沟茧蜂,出茧率和茧重分别下降了 26.1%和 1.0 mg;对于棉铃虫齿唇姬蜂,分别下降了17.9%和 5.1 mg。解剖寄主发现,两种寄生蜂在取食抗虫棉饲料的寄主体内发育缓慢并出现部分畸形幼蜂。棉铃虫幼虫血淋巴总蛋白含量和血淋巴蛋白 SDS-PAGE 电泳分析表明,取食抗虫棉饲料后,棉铃虫血淋巴总蛋白含量低于相应的对照,推测寄主血淋巴蛋白含量降低是导致寄生蜂生长缓慢、发育不正常的一个重要原因。

关键词:转基因棉;棉铃虫;中红侧沟茧蜂;棉铃虫齿唇姬蜂;生长;发育

中图分类号: Q965 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2004)01-0001-07

Impact of transgenic Cry1A plus CpTI cotton on Helicoverpa armigera (Lepidoptera: Noctuidae) and its two endoparasitoid wasps Microplitis mediator (Hymenoptera: Braconidae) and Campoletis chlorideae (Hymenoptera: Ichneumonidae)

REN Lu^{1,2}, YANG Yi-Zhong²*, LI Xuan¹, MIAO Lin¹, YU Yue-Shu², QIN Qi-Lian¹* (1. State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China; 2. Department of Plant Protection, Agricultural College, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China)

Abstract: By concocting a cotton bollworm artificial diet containing 1% leaf powder of transgenic Cry1A plus CpTI cotton "Zhongkang 310" as cotton bollworm diet, a system with a triple nutrition relation consisting of transgenic cotton-Helicoverpa armigera-two endoparasitoid wasps Microplitis mediator and Campoletis chlorideae was constructed. Six treatments of H. armigera worms were conducted for evaluating the impact of the transgenic cotton on the worm and its parasitoid wasps: (1) fed on non-transgenic cotton; (2) fed on transgenic cotton; (3) fed on transgenic cotton, parasitized by M. mediator; (4) fed on non-transgenic cotton, parasitized by M. mediator; (5) fed on transgenic cotton, parasitized by C. chlorideae; and (6) fed on non-transgenic cotton, parasitized by C. chlorideae. Tracing growth and development of the worms and their parasitoid wasps showed that the transgenic cotton suppressed the growth and development of the worm significantly no matter whether it was parasitized by the wasps or not. The cocooning rate and cocoon weight of the two wasps parasitizing the worms fed on transgenic cotton declined greatly. For M. mediator, the cocooning rate and cocoon weight decreased by 26.1% and 1 mg respectively; and for C. chlorideae, 17.9% and 5.1 mg respectively. The larvae of the two wasps developing in the haemocoele of the worms fed on transgenic cotton grew tardily and some of them showed abnormal observed by dissection. Analysis of hemolymph protein of the worm showed that the total hemolymph protein content of the worm fed on transgenic cotton was lower than that of the control. The results implied that low host hemolymph protein content might lead to the two wasps larvae growing tardily and developing abnormally.

Key words: Transgenic cotton; Helicoverpa armigera; Microplitis mediator; Campoletis chlorideae; growth; development

基金项目: 国家自然科学基金项目(30000017);北京市自然科学基金项目(6012015)

作者简介: 任璐,女,1977年10月生,昆虫生态学硕士

^{*} 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: qinql@panda.ioz.ac.cn

随着转基因作物的大面积种植推广,其生态风险和安全性问题受到人们越来越多的关注,成为当前转基因作物研究领域的热点(Chevre et al., 1997; Hokanson et al., 1997; Schuler et al., 1999; Losey et al., 1999; 谭声江等,2002; 张永军等,2002)。生态风险和安全性研究的一个重要内容是转基因作物对天敌的直接影响,和通过天敌的寄主或猎物导致的间接影响。目前,大多数研究集中在转基因作物对捕食性天敌及外寄生蜂的影响方面(Down et al., 1999; Bell et al., 2001; 邓曙东等,2003),对内寄生蜂的研究报道甚少。一些专家认为,转基因棉花对寄生性天敌的作用是直接的(崔金杰和夏敬源,1998; Schuler et al., 1999); 另一些学者则认为,转基因棉对寄生蜂的作用是间接的,这种间接作用表现得尤为显著(Baur and Boethel, 2003)。

鉴于当前转基因作物对内寄生蜂影响研究相对欠缺的现状,我们以目前生产上大面积推广种植的转基因抗虫棉花品种为研究材料,以其亲本棉花为对照,研究转基因抗虫棉对棉铃虫 Helicoverpa armigera 幼虫的两种优势内寄生蜂中红侧沟茧蜂 Microplitis mediator 和棉铃虫齿唇姬蜂 Campoletis chlorideae 在寄生取食了转基因抗虫棉的棉铃虫后,一些生理生态指标所发生的变化,试图以此评估转基因抗虫棉在大规模推广种植过程中,对寄生性天敌可能造成的影响,以及影响的内在机制。

1 材料与方法

1.1 棉花品种

以江苏省等地区大面积种植的转基因($C_{ry}1A$ + C_{pTI})抗虫棉"中抗 310"(以下简称抗虫棉)为材料,常规棉"苏棉 12"作对照品种。"中抗 310"系转苏云金杆菌(B_{t})晶体毒蛋白基因($C_{ry}1A$)和豇豆胰蛋白酶抑制剂基因(C_{pTI})的双价抗虫棉,其亲本棉是"苏棉 12"。在棉花现蕾时取棉花中上部叶片,低温速冻后,用真空冷冻干燥机冷冻干燥,粉碎过 100目筛制成棉叶粉,放置 4℃冰箱中备用。

1.2 人工饲料的配制

棉铃虫基础人工饲料配方为: 啤酒酵母粉 3 g, 麦胚粉 15 g, 番茄酱 20 g, 抗坏血酸 0.3 g, 尼泊金 0.2 g, 山梨酸 0.1 g, 亚油酸 0.1 mL, 琼脂 1.4 g, 水 80 mL。在棉铃虫基础人工饲料内加入 1 g"中抗 310"的棉叶粉制成含抗虫棉的饲料, 对照饲料加入 1 g"苏棉 12"的棉叶粉。

1.3 实验昆虫

棉铃虫和中红侧沟茧蜂在本实验室饲养繁殖多 代,棉铃虫齿唇姬蜂由中国科学院动物研究所有害 生物研究中心王琛柱研究员惠赠。

1.4 转基因抗虫棉对棉铃虫和寄生蜂生长的效应

由于初孵棉铃虫取食含抗虫棉的人工饲料死亡率很高,并且发育极为缓慢,因而棉铃虫孵化后先用基础人工饲料,在(26±0.5)℃,光周期为 16L:8D 的光照培养箱饲养 2 天,此时棉铃虫处于 1 龄末期。挑选生长一致的 1 龄末期棉铃虫,用上述的含"中抗310"和"苏棉 12"的人工饲料在指型管内单头饲养。以下将含棉叶粉的两种饲料分别称作抗虫棉饲料和常规棉饲料。取食抗虫棉饲料和常规棉饲料后 2 天,分别让两种寄生蜂寄生,评价抗虫棉对棉铃虫和寄生蜂生长的效应。

实验设置6个处理:(1)取食常规棉饲料的棉铃 虫:(2)取食抗虫棉饲料的棉铃虫:(3)取食常规棉饲 料被中红侧沟茧蜂寄生的棉铃虫:(4)取食抗虫棉饲 料被中红侧沟茧蜂寄生的棉铃虫;(5)取食常规棉饲 料被棉铃虫齿唇姬蜂寄生的棉铃虫;(6)取食抗虫棉 饲料被棉铃虫齿唇姬蜂寄生的棉铃虫。每处理 10 ~20头棉铃虫,重复3次。每天记录各处理棉铃虫 的体重和发育阶段,观察其生长情况。在取食抗虫 棉饲料后,棉铃虫受 Bt 毒蛋白影响较大,极少数个 体生长发育非常缓慢甚至死亡,这些个体的数据未 计算在内。在寄生蜂幼蜂发育过程中,不定期抽取 部分寄主解剖,观察幼蜂在寄主体内的发育情况。 在寄生蜂完成发育从寄主体内钻出结茧后,称取寄 生蜂的茧重,统计出茧率和畸形茧率,其中畸形茧定 义为幼蜂钻出寄主后不能吐丝结茧或结出不正常的 茧,幼蜂不能被蜂茧包裹,基本处于裸露状态,最终 不能羽化。

1.5 取食抗虫棉后寄主内环境的改变

1.5.1 寄主血淋巴总蛋白含量的测定:在寄生后第4天,吸取上述6个处理棉铃虫的血淋巴进行总蛋白含量测定。将棉铃虫浸入蒸馏水中10 min 使其昏迷,吸水纸吸干虫体,用拉细的玻璃毛细管刺破腹足,吸取血淋巴放入冰浴的1.5 mL Eppendorf管中,管中预先加入少量的苯基硫脲防止血淋巴黑化。血淋巴样品在4℃下5000 r/min 离心3 min,上清液保存于-20℃冰箱,用于血淋巴总蛋白含量测定和SDS-PAGE 电泳。每个样品含有10~15 头棉铃虫的血淋巴,每处理重复3次。

以牛血清白蛋白作标准曲线,用 Bradford(1976)

法进行蛋白含量的测定。

1.5.2 寄主血淋巴总蛋白 SDS-PAGE 电泳: 参照 Laemmli(1970)的方法,对血淋巴进行 10%的 SDS-PAGE 凝胶电泳,每加样孔上样量为 20 μg 蛋白,考 马氏亮蓝 R-250 染色。

结果与分析 2

抗虫棉对棉铃虫和寄生蜂生长发育的双重效 2.1 应

抗虫棉对棉铃虫的毒杀和抑制生长发育的效应 已有许多报道,我们将抗虫棉棉叶粉加入棉铃虫人 工饲料中,并以此为饲养棉铃虫的饲料,分析棉铃虫 被寄生蜂寄生后生长发育的动态变化,同时观察寄 生蜂在寄主体内和体外的发育状态,以研究抗虫棉 对棉铃虫和寄生蜂生长发育的双重效应。

棉铃虫生长发育的动态: 为了便于分析棉 铃虫发育的动态,将棉铃虫不同龄期的发育阶段进 行数量化分级,把每个龄期分为蜕皮初期、取食期和 皮层溶离期(apolysis)三个阶段,并赋予一个递增的 数值(表 1)。无论是否被寄生,取食抗虫棉饲料的 棉铃虫的发育进度都落后于取食常规棉饲料的(图 1),即抗虫棉抑制了棉铃虫的发育,并进一步对体内 寄生蜂的发育造成了影响(见本文 2.1.2)。

表1 棉铃虫幼虫各龄期的分级

Table 1 Developmental level in the respective stages of H. armigera larva									
龄期	发育阶段	级别	龄期	发育阶段	级别				
Stage	Developmental level	Grade	Stage	Developmental level	Grade				
1龄 1st instar	初孵 Newly hatch	1	4龄4thinstar	蜕皮初期 Ecdysis	10				
	取食期 Feeding	2		取食期 Feeding	11				
	皮层溶离期 Apolysis	3		皮层溶离期 Apolysis	12				
2龄 2nd instar	蜕皮初期 Ecdysis	4	5龄5th instar	蜕皮初期 Ecdysis	13				
	取食期 Feeding	5		取食期 Feeding	14				
	皮层溶离期 Apolysis	6		皮层溶离期 Apolysis	15				
3龄 3rd instar	蜕皮初期 Ecdysis	7	6龄6th instar	蜕皮初期 Ecdysis	16				
	取食期 Feeding	8		取食期 Feeding	17				
	皮层溶离期 Apolysis	9		皮层溶离期 Apolysis	18				

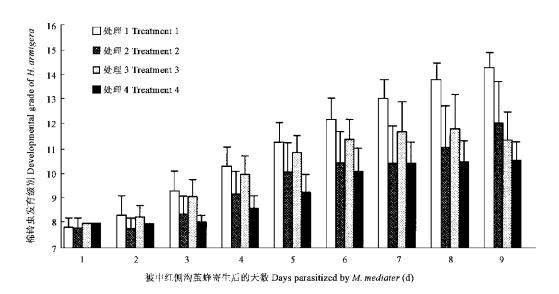


图 1 取食抗虫棉饲料后棉铃虫发育的动态

Fig. 1 Developmental dynamics of H. armigera larvae fed transgenic cotton

处理 1 Treatment 1: 取食常规棉饲料 Fed on non-transgenic cotton diet;处理 2 Treatment 2: 取食抗虫棉饲料 Fed on transgenic cotton diet; 处理 3 Treatment 3: 取食常规棉饲料并被中红侧沟茧蜂寄生 Fed on non-transgenic cotton diet and parasitized by M. mediator; 处理 4 Treatment 4: 取食抗虫棉饲料并被中红侧沟茧蜂寄生 Fed on transgenic cotton diet and parasitized by M. mediator.

棉铃虫的生长也受到抗虫棉饲料的抑制,无论是否被寄生,取食抗虫棉饲料的棉铃虫体重都极显著地低于取食常规棉饲料的(图 2~4),说明抗虫棉对棉铃虫造成的生理冲击是巨大的。对于内寄生蜂来说,生长于生理状态极不正常的寄主体内,其自身的生长发育必将受到影响。

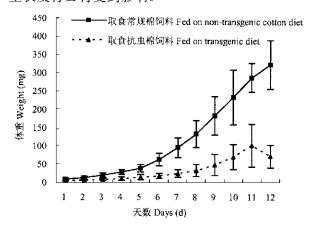


图 2 取食不同饲料棉铃虫体重的动态 Fig. 2 Weight dynamics of *H. armigera* fed on different diets

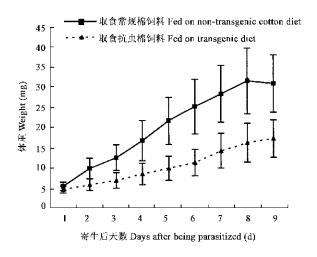


图 3 取食不同饲料被中红侧沟茧蜂寄生的棉铃虫体重的动态

Fig. 3 Weight dynamics of H. armigera parasitized by M. mediator and fed on different diets

2.1.2 抗虫棉对寄生蜂的效应:两种寄生蜂寄生取食抗虫棉饲料的棉铃虫后,其出茧率和茧重都显著下降,同时中红侧沟茧蜂的畸形茧率却有所上升(表2),导致最终羽化出的成蜂数量减少,生存能力和繁殖能力都大大减弱(观察资料)。以中红侧沟茧蜂为例,寄生了取食抗虫棉饲料的棉铃虫后,出茧率

下降了 26.1%,畸形茧率增加了一倍,致使只有 6.3%的蜂茧能够正常出蜂(表 2)。这一资料表明, 抗虫棉能够通过寄主对内寄生蜂的种群数量造成重大影响,使其种群数量急剧下降。

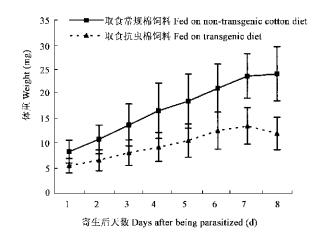


图 4 取食不同饲料被棉铃虫齿唇姬蜂 寄生的棉铃虫体重的动态

Fig. 4 Weight dynamics of *H. armigera* parasitized by *C. chlorideae* and fed on different diets

在寄生后的不同天数,抽样解剖寄主,观察幼蜂的发育情况。结果表明,两种寄生蜂在取食抗虫棉饲料的棉铃虫体内发育非常缓慢,有相当一部分幼蜂不能正常蜕皮进入2龄,最终也不能钻出寄主结茧化蛹,而相应的生长在取食常规棉饲料的棉铃虫体内的幼蜂,在寄生后4~5天即开始蜕皮进入2龄。这一结果提示,表2中寄生取食抗虫棉饲料的寄生蜂出茧率下降是由于幼蜂在寄主体内发育不正常造成的。

2.2 转基因抗虫棉间接影响寄生蜂发育机理的分析

内寄生蜂生活于寄主血腔中,寄主血淋巴蛋白 是其食物的主要来源,取食不同食料的寄主血淋巴 蛋白含量和组分的变化,将直接影响到幼蜂的生长 发育,本文从这个角度入手,分析转基因抗虫棉通过 寄主抑制寄生蜂生长发育的机理。

2.2.1 棉铃虫血淋巴总蛋白含量的比较: 从图 5 可以看出,无论是否被寄生,取食了抗虫棉饲料后,棉铃虫血淋巴总蛋白含量都呈下降的趋势。表现较为明显的是受棉铃虫齿唇姬蜂寄生的棉铃虫,在寄生的第 6、第 7 天,分别从取食常规饲料的 20.63 mg/mL和 24.82 mg/mL下降到取食抗虫棉饲料的 13.34 mg/mL和 16.08 mg/mL,减幅非常大。由此推测,取食抗虫

表 2 转基因抗虫棉对两种寄生蜂的效应

 Fable 2
 Indirect impact of transgenic cotton on two parasitoid wasps

寄生蜂 Parasitoid wasp	寄主的饲料 Diet	观察 虫数 Insect tested	出茧率(%) Cocooning rate	畸形茧率(%) Rate of abnormal cocoon	茧重(mg) Cocoon weight
中红侧沟茧蜂 M. mediator	常规棉饲料 Non-transgenic cotton diet	47	78.7	23.1	3.8
W . Headao	抗虫棉饲料 Transgenic cotton diet	38	52.6*	46.3**	2.8*
棉铃虫齿唇姬蜂 C. chlorideae	常规棉饲料 Non-transgenic cotton diet	46	71.7	0	11.6
	抗虫棉饲料 Transgenic cotton diet	39	53.8*	0	6.5**

- *表示在0.05 水平上差异显著: **表示在0.01 水平上差异显著。
- * Significant difference at 0.05 level: * * Significant difference at 0.01 level.

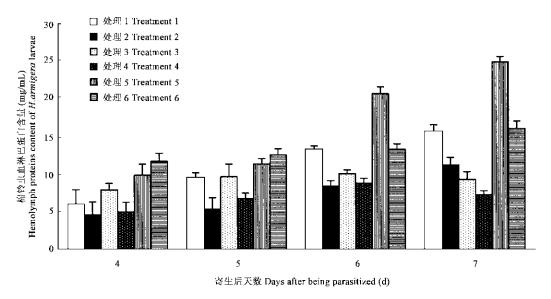


图 5 棉铃虫血淋巴总蛋白含量的动态

Fig.5 Hemolymph proteins profile of H. armigera larvae

处理 1 Treatment 1: 取食常规棉饲料 Fed on non-transgenic cotton diet;处理 2 Treatment 2: 取食抗虫棉饲料 Fed on transgenic cotton diet;处理 3 Treatment 3: 取食常规棉饲料并被中红侧沟茧蜂寄生 Fed on non-transgenic cotton diet and parasitized by M. mediator;处理 4 Treatment 4: 取食抗虫棉饲料并被中红侧沟茧蜂寄生 Fed on transgenic cotton diet and parasitized by M. mediator;处理 5 Treatment 5: 取食常规棉饲料并被棉铃虫齿唇姬蜂寄生 Fed on non-transgenic cotton diet and parasitized by C. chlorideae;处理 6 Treatment 6: 取食抗虫棉饲料并被棉铃虫齿唇姬蜂寄生 Fed on transgenic cotton diet and parasitized by C. chlorideae.

棉饲料后,棉铃虫血淋巴总蛋白含量的急剧下降可能是导致中红侧沟茧蜂茧和棉铃虫齿唇姬蜂幼蜂发育缓慢或不正常,出茧率降低,茧重偏轻的一个重要原因。

从图 5 还可以看出一个有趣的现象,虽然受到棉铃虫齿唇姬蜂寄生,在寄生的后期(寄生后第 6、第 7 天)棉铃虫血淋巴总蛋白含量大大高于相应的未被寄生的对照,说明棉铃虫齿唇姬蜂可以根据自身生长发育的需求,调整寄主的生理状况,这是内寄生蜂同寄主长期协同进化的结果。

2.2.2 寄主血淋巴蛋白的 SDS-PAGE 分析: 虽然取食抗虫棉饲料后,棉铃虫血淋巴总蛋白的含量变化

很大,但在电泳的蛋白质加样量相同的情况下,同相应的取食常规棉饲料的相比,谱带的数量和强度改变却不大,说明蛋白质的种类变化不大(图 6,7),在取食抗虫棉饲料棉铃虫体内发育的寄生蜂生长发育受到抑制,更有可能来自于寄主血腔中营养物质的减少(血淋巴总蛋白含量降低)。

3 结论与讨论

在室内研究抗虫棉对内寄生蜂的影响存在一个 比较难于解决的问题,如果饲喂寄主抗虫棉含量过 高,引起寄主大量死亡,体内的寄生蜂也随之死亡,

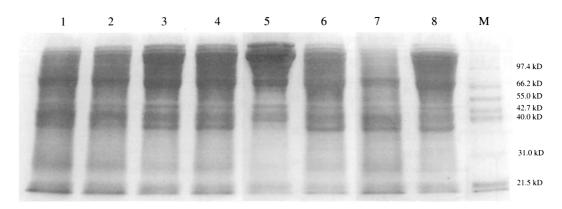


图 6 中红侧沟茧蜂寄生后棉铃虫血淋巴蛋白 SDS-PAGE 电泳图谱

Fig. 6 SDS-PAGE proteins profile of larval hemolymph of *H. armigera* parasitized by *M. mediator*1,3,5,7 分别为取食常规饲料棉铃虫被寄生后第 4,5,6,7 天 Lanes 1, 3, 5 and 7 pertain to 4th, 5th, 6th and 7th day post-parasitized by *M. mediator* on *H. armigera* fed on non-transgenic cotton diet, respectively; 2,4,6,8 分别为取食抗虫棉饲料棉铃虫被寄生后第 4,5,6,7 天 Lanes 2, 4, 6 and 8 pertain to 4th, 5th, 6th and 7th day post-parasitized by *M. mediator* on *H. armigera* fed on transgenic cotton diet, respectively; M 为蛋白质分子量标准 M is standard protein marker.

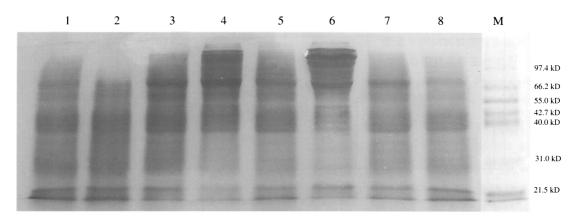


图 7 棉铃虫齿唇姬蜂寄生后棉铃虫血淋巴蛋白 SDS-PAGE 电泳图谱

Fig. 7 SDS-PAGE proteins profile of larval hemolymph of *H. armigera* parasitized by *C. chloideae* 1,3,5,7 分别为取食常规饲料棉铃虫被寄生后第 4,5,6,7 天 Lanes 1, 3, 5 and 7 pertain to 4th, 5th, 6th and 7th day post-parasitized by *C. chloideae* on *H. armigera* fed on non-transgenic cotton diet, respectively; 2,4,6,8 分别为取食抗虫棉饲料棉铃虫被寄生后第 4,5,6,7 天 Lanes 2, 4, 6 and 8 pertain to 4th, 5th, 6th and 7th day post-parasitized by *C. chloideae* on *H. armigera* fed on transgenic cotton diet, respectively; M 为蛋白质分子量标准 M is standard protein marker.

导致实验无法正常进行;如果饲喂的含量过低,又体现不出抗虫棉的效应。本研究建立了一套抗虫棉棉铃虫-内寄生蜂的三级营养关系系统,较好地解决了上述的问题,具体为:采集毒蛋白表达较高时期的棉叶,速冻后冷冻干燥,很好地保持了毒蛋白的活性,同时摸索出以一定的比例加入棉铃虫基础人工饲料中(本研究中为0.8%)的方法,这样既能保持较高的寄主存活率,又可以最大限度地体现抗虫棉的效应。另外,在棉铃虫初孵时,用基础人工饲料饲养2天,然后改为抗虫棉饲料或常规棉饲料饲养2天(详见本文的"材料与方法"),以这样的寄主提供给寄生蜂寄生,可以保证寄生蜂既能在具有一定生物量的寄主体内寄生,同时这样的寄主又受到抗虫

棉的影响,将抗虫棉、棉铃虫、寄生蜂三者联系了起来。

本实验结果提示,抗虫棉不仅抑制棉铃虫的生长发育,而且降低棉铃虫血淋巴总蛋白的含量,同时可能通过这些对棉铃虫的不利作用,进而对两种寄生蜂的寄生造成不利影响,包括出茧率下降、畸形茧率上升、茧重降低等一系列影响寄生蜂种群的指标。即棉铃虫取食抗虫棉后,由于自身生理生态的变化,间接影响到寄生蜂的生长发育,表现出一种非常明显的链式效应。

杨益众等(2000)的研究认为,转基因棉的次生 代谢产物在田间影响到寄生性天敌对棉田害虫的搜索。本研究进一步指出,转基因棉还能通过影响寄 主来对寄生蜂产生影响。但由于本研究主要通过测定寄主棉铃虫的一系列生理指标来推断对内寄生蜂的间接影响,而棉铃虫的这些指标对两种寄生蜂到底有多大的影响,还需要用更直接的证据来加以证明,特别是棉铃虫取食抗虫棉后,其体内是否有毒蛋白的积累,或生理生化上的改变,直接作用于寄生蜂,还需要做细致的工作。

棉田害虫与天敌种类甚多,转基因棉花品种与基因类型也很多。本研究只是从寄主的角度评价了一种转双价抗虫基因棉对棉铃虫两种幼虫内寄生性天敌的作用,试图建立一种室内评价转基因作物对天敌安全性的实验模式,为进一步深入开展相关的研究奠定基础。

参考文献(References)

- Baur ME, Boethel DJ, 2003. Effect of Bt-cotton expressing Cry1A(c) on the survival and fecundity of two hymenopteran parasitoids (Braconidae, Encyrtidae) in the laboratory. *Biol. Control*, 26: 325 332.
- Bell HA, Fitches EC, Down RE, Marris GC, Edwards JP, Gatehouse JA, Gatehouse AM, 1999. The effect of snowdrop lectin (GNA) delivered via artificial diet and transgenic plants on Eulophus pennicomis (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of the tomato moth Lacanobia oleracea (Lepidoptera: Noctuidae). J. Insect Physiol., 45: 983 991.
- Bell HA, Fitches EC, Down RE, Ford L, Marris GC, Edwards JP, Gatehouse JA, Gatehouse AM, 2001. Effect of dietsry cowpea trypsin inhibitor (CpTI) on the growth and development of the tomato moth *Lacanobia oleracea* (Lepidoptera: Noctuidae) and on the success of the gregarious ectoparasitoid *Eulophus pennicomis* (Hymenoptera: Eulophidae). *Pest Manag*. Sci., 57(1): 57-65.
- Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem., 72: 248-254.
- Chevre AM, Eber F, Baranger A, Renard M, 1997. Gene flow from transgenic crops. *Nature*, 389: 924.

- Cui JJ, Xia JY, 1998. Occurrences of main insect-pests and its natural enemies in the transgenic cotton field. Cotton Science, 10(5): 255 262. [崔金杰,夏敬源,1998.麦套夏播转 Bt 基因棉田主要害虫及其天敌的发生规律.棉花学报,10(5): 255 262]
- Deng SD, Xu J, Zhang QW, Zhou SW, Xu GJ, 2003. Effect of transgenic Bt cotton on population dynamics of the non-target pests and natural enemies of pests. *Acta Entomol. Sin.*, 46(1): 1-5.[邓曙东,徐静,张青文,周世文,徐冠军,2003. 转 Bt 基因棉对非靶标害虫及害虫天敌种群动态的影响.昆虫学报,46(1): 1-5]
- Down RE, Ford L, Mosson HJ, Fitches E, Gatehouse JA, Gatehouse AM, 1999. Protease activity in the larval stage of the parasitoid wasp, Eulophus pennicornis (Nees) (Hymenoptera: Eulophidae); effects of protease inhibitors. Parasitology, 119(2): 157-166.
- Hokanson SC, Hancock JF, Grumet R, 1997. Direct comparisons of pollen mediated movement of native and engineered genes. *Euphytica*, 96: 397 – 403.
- Laemmli UK, 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, 227: 680 – 685.
- Losey JE, Rayor LS, Carter ME, 1999. Transgenic pollen harms monarch larvae. Nature, 399 (20): 214.
- Schuler TH, Potting RPJ, Denholm I, Poppy GM, 1999. Parasitoid behavior and Bt plants. Nature, 400(26): 825 – 826.
- Tan SJ, Chen XF, Li DM, 2002. Progress in studies on Helicoverpa spp. resistance to transgenic Bt cotton and its management strategy. Acta Entomol. Sin., 45(1): 138 144. [谭声江, 陈晓峰, 李典谟, 2002. 棉铃虫对转 Bt 基因棉的抗性及其治理策略研究进展. 昆虫学报,45(1): 138 144]
- Yang YZ, Yu YS, Ren L, 2000. Rejection effects of transgenic Bt cotton on the parasitoids of cotton bollworm. *Jiangsu Agricul*. Res., 21(4): 86. [杨益众,余月书,任璐,2000.转 Bt 基因棉对棉铃虫寄生性天敌的排斥反应.江苏农业研究,21(4): 86]
- Zhang YJ, Wu KM, Peng YF, Guo YY, 2002. Progress in ecological safety of insect-resistant transgenic plants. *Entomol. Knowledge*, 39(5): 321 327. [张永军,吴孔明,彭于发,郭予元,2002.转抗虫基因植物生态安全性研究进展.昆虫知识,39(5): 321 327]

(责任编辑: 黄玲巧)